

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ СВОБОДНОЙ И ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМ УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПЕЧЕНИ

Витебский государственный
медицинский университет

Введение свободной и иммобилизованной форм урсодезоксихолево́й кислоты крысам с острым повреждением печени тетрахлорметаном оказывает гепато-защитное действие, значительно ослабляя процессы цитолиза и повышая активность антиоксидантной системы. Иммобилизованная форма урсодезоксихолево́й кислоты обладает более выраженным антиоксидантным эффектом и более благоприятным влиянием на липидный обмен.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время урсодезоксихолево́вая кислота (УДХК) широко применяется для лечения различных заболеваний печени [10]. УДХК – гидрофильная третичная желчная кислота, представляющая малую фракцию пула желчных кислот человека. При введении УДХК в организм изменяется баланс между гидрофобными и гидрофильными желчными кислотами, что обеспечивает её цитопротективный, мембраностабилизирующий, иммуномодулирующий, антиапоптозный и холеретический эффекты [9].

Цитотоксичность лекарственных средств, доказанная в опытах *in vitro* и для УДХК [6], может быть связана с развитием пиковых концентраций препаратов в крови. Это стало обоснованием разработки иммобилизованной формы УДХК путем сорбции на анионите – диэтиламиноэтилцеллюлозе (ДЭЦ) в расчете на постепенное высвобождение УДХК в тонком кишечнике.

Целью данной работы явилось изучение влияния свободной и иммобилизованной форм урсодезоксихолево́й кислоты

на состояние печени крыс в условиях острого токсического повреждения печени тетрахлорметаном.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проведены в летний период на 72 белых беспородных крысах самцах массой 180-200 г, которых содержали в условиях естественного светового режима и на стандартной диете. Острое токсическое повреждение печени вызывали однократным подкожным введением 50% масляного раствора тетрахлорметана (CCl_4) в дозе 2 мл/кг массы тела (группы 1-4). Через 0,5 часа после затравки тетрахлорметаном однократно внутривенно были введены препараты свободной (группа 4) и иммобилизованной (группа 3) форм УДХК и иммобилизационный носитель – ДЭЦ (группа 2). Доза свободной УДХК и иммобилизованной УДХК (И-УДХК) была эквивалентна 30 мг/кг действующего вещества. Препараты применяли в форме суспензии на 1% крахмальной слизи. Контрольные животные получали крахмальную слизь. Через 24 и 48 часов после введения тетрахлорметана крыс декапитировали под легким эфирным наркозом. В сыворотке крови с помощью стандартных наборов фирмы “Кормей ДиАна” (Польша) измеряли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), содержание общего холестерина (ОХС), α -холестерина (α -ХС) и триацилглицеролов (ТГ). По результатам липидного спектра сыворотки крови рассчитывали холестериновый индекс атерогенности (ИА). Кроме того, измеряли содержание ТБК (2-тиобарбитуровая кислота)-активных продуктов [1] и диеновых конъюгатов (ДК) [2]. В печени определяли количество ТБК-активных продуктов, ДК, белков, общую антиоксидантную активность (АОА) [3], активность кислой фосфолипазы A_2 (ФЛА $_2$, КФ 3.1.1.14) [13], содержание холестерина (ХС) [5] и ТГ [12]. Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе метаболизма тетрахлорметана цитохромом Р-450 в печени резко активируются процессы перекисного

хлорметана в сыворотке крови животных первой группы наблюдалось увеличение содержания ДК на 30%, а количество ТБК-активных продуктов удвоилось (табл. 1). Также отмечено повышение активности

Таблица 1.

Биохимические показатели сыворотки крови крыс через 24 часа после острого повреждения печени тетрахлорметаном ($M \pm m$).

Показатель	Группы животных				
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
АлАТ, МЕ/л	248 \pm 12,2	711 \pm 49,1 ¹	730 \pm 14,3 ¹	515 \pm 19,3 ^{1,4}	584 \pm 21,2 ^{1,3}
АсАТ, МЕ/л	60 \pm 3,5	285 \pm 22,1 ¹	255 \pm 14,5 ¹	99 \pm 6,3 ^{1,3}	108 \pm 2,5 ^{1,3}
ТБК-акт. продукты, нмоль/г белка	49,2 \pm 2,19	100,6 \pm 4,02 ¹	99,6 \pm 2,76 ¹	85,1 \pm 3,25 ^{1,3}	86,6 \pm 3,55 ^{1,3}
ДК, отн. ед./мг липидов	1,40 \pm 0,061	1,83 \pm 0,092 ¹	1,85 \pm 0,059 ¹	1,46 \pm 0,061 ^{2,3}	1,61 \pm 0,072 ^{1,3}
ТГ, ммоль/л	1,44 \pm 0,052	1,25 \pm 0,046 ¹	1,36 \pm 0,052	1,26 \pm 0,054 ¹	1,33 \pm 0,069
ОХС, ммоль/л	2,28 \pm 0,029	1,76 \pm 0,098 ¹	1,58 \pm 0,068 ¹	1,80 \pm 0,059 ^{1,3}	1,72 \pm 0,063 ¹
α -ХС, ммоль/л	1,21 \pm 0,052	0,98 \pm 0,049 ¹	0,97 \pm 0,074 ¹	1,08 \pm 0,053 ⁴	0,78 \pm 0,055 ^{1,2}
ИА	0,89 \pm 0,061	0,80 \pm 0,045	0,63 \pm 0,036 ^{1,2}	0,67 \pm 0,029 ^{1,2,4}	1,20 \pm 0,151 ^{2,3}

Примечание. Здесь и в табл. 2-4 значения статистически значимы ($p \leq 0,05$) по сравнению: ¹ – с контролем, ² – с группой 1, ³ – с группой 2, ⁴ – с группой 5.

окисления липидов (ПОЛ), что обуславливает развитие выраженного гепатотоксического действия тетрахлорметана, приводящего к повреждению мембран, дисфункции и гибели клеток [7]. Нарушение системы антиоксидантной защиты, наряду с активацией ФЛА₂, также является важным вторичным механизмом гепатотоксического действия тетрахлорметана [4].

Через 24 часа после введения тетра-

ферментов-индикаторов цитолиза: АлАТ в 2,9 раза и АсАТ в 4,7 раза. Помимо этого, у подопытных животных указанной выше группы наблюдалось развитие гипополипдемии с уменьшением уровня общего и α -ХС в среднем на 20%.

В ткани печени крыс этой группы наблюдалось повышение содержания ТГ, ХС и ТБК-активных продуктов, соответственно на 31%, 54% и 84%, снижение коли-

Таблица 2.

Биохимические показатели печени крыс через 24 часа после острой интоксикации печени тетрахлорметаном ($M \pm m$).

Показатель	Группы животных				
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
ТБК-акт. продукты, нмоль/г белка	251 \pm 12,7	461 \pm 12,8 ¹	460 \pm 17,1 ¹	407 \pm 12,9 ^{1,3}	427 \pm 17,8 ¹
ДК, отн. ед./мг липидов	8,5 \pm 0,46	7,8 \pm 0,37	7,7 \pm 0,25	8,9 \pm 0,23 ^{2,3}	8,1 \pm 0,50
АОА, %	34 \pm 2,1	19 \pm 2,0 ¹	18 \pm 1,6 ¹	27 \pm 2,1 ^{1,3}	28 \pm 1,9 ^{1,3}
ТГ, ммоль/г	10,5 \pm 0,27	13,8 \pm 0,42 ¹	12,8 \pm 0,53 ¹	10,6 \pm 0,50 ^{2,4}	12,5 \pm 0,57 ¹
ХС, ммоль/г	1,99 \pm 0,078	3,07 \pm 0,122 ¹	2,74 \pm 0,104 ¹	2,51 \pm 0,161 ^{1,2}	2,46 \pm 0,173 ^{1,2}
Кислая ФЛА ₂ , мкмоль/мин. г белка	4,8 \pm 0,23	6,8 \pm 0,35 ¹	6,7 \pm 0,24 ¹	5,6 \pm 0,27 ^{1,3}	5,8 \pm 0,30 ^{1,3}
Общий белок, мг/г	187 \pm 6,8	140 \pm 3,3 ¹	138 \pm 6,6 ¹	196 \pm 2,6 ^{2,3}	193 \pm 7,2 ^{2,3}

чества белка на 33% и повышение активности кислой ФЛА₂ на 42% (табл. 2).

Введение свободной и иммобилизованной форм УДХК препятствовало накоплению продуктов ПОЛ в сыворотке крови

блюдалось дальнейшее увеличение количества ДК ещё на 50%, содержание АлАТ и АсАТ выросло соответственно в 1,6 и 1,4 раза, а количество ОХС и α-ХС уменьшилось на 17% по сравнению со значениями

Таблица 3.

Биохимические показатели сыворотки крови крыс через 48 часов после острого повреждения печени тетрахлорметаном (М ± m).

Показатель	Группы животных				
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
АлАТ, МЕ/л	248 ± 12,2	1020 ± 45 ¹	1037 ± 56 ¹	501 ± 17,4 ¹⁻³	454 ± 29,5 ¹⁻³
АсАТ, МЕ/л	60 ± 3,5	378 ± 20,6 ¹	375 ± 25,5 ¹	268 ± 22,4 ¹⁻³	206 ± 10,6 ¹⁻³
ТБК-акт. продукты, нмоль/г белка	49,2±2,19	91,1 ± 6,02 ¹	92,8 ± 4,76 ¹	44,5± 2,43 ²⁻⁴	71,6±3,91 ¹⁻³
ДК, отн. ед./мг липидов	1,40±0,061	2,54±0,191 ¹	2,53± 0,211 ¹	1,42±0,102 ^{2,3}	1,52±0,139 ^{2,3}
ТГ, ммоль/л	1,44±0,052	1,30±0,075	1,34 ± 0,068	1,38 ± 0,065	1,37 ± 0,071
ОХС, ммоль/л	2,28±0,029	1,44±0,065 ¹	1,38± 0,028 ¹	1,55±0,043 ^{1,3}	1,53 ± 0,108 ¹
α- ХС, ммоль/л	1,21±0,052	0,76±0,039 ¹	0,72± 0,041 ¹	1,03±0,056 ¹⁻⁴	0,84 ± 0,053 ¹
ИА	0,89±0,061	0,90±0,086	0,92 ± 0,091	0,51±0,045 ¹⁻⁴	0,82 ± 0,056

и печени животных третьей и четвертой групп, а также способствовало повышению АОА ткани печени в среднем на 42%. Эффективность свободной УДХК сопоставима с эффектом И-УДХК. Применение обеих форм УДХК задерживало скорость нарастания активности АсАТ в 2,6-2,8 раза, АлАТ в 1,2-1,4 раза, препятствовало снижению содержания белка, накоплению ХС и повышению активности кислой ФЛА₂ в ткани печени. Препарат И-УДХК, в отли-

через 24 часа (табл. 3). В третьей группе животных, получавших И-УДХК, в отличие от животных четвертой группы, получавших свободную УДХК, к этому времени нормализовалось количество ТБК-активных продуктов и ДК в сыворотке крови и ХС в печени, а также наблюдалось более выраженное снижение ТБК-активных продуктов в печени, сохранение содержания α-ХС сыворотки крови наряду с уменьшением ИА (табл. 4). Обе формы

Таблица 4.

Биохимические показатели печени крыс через 48 часов после острой интоксикации печени тетрахлорметаном (М ± m).

Показатель	Группы животных				
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
ТБК-акт. продукты, нмоль/г белка	251 ± 12,7	481 ± 40,1 ¹	493 ± 46,2 ¹	328±20,8 ¹⁻⁴	426 ± 16,2 ¹
ДК,отн.ед./мг липидов	8,5 ± 0,46	11,7±0,52 ¹	11,9±0,56 ¹	9,9 ± 0,38 ¹⁻³	10,1±0,44 ¹⁻³
АОА, %	34 ± 2,1	17 ± 1,3 ¹	17 ± 0,9 ¹	24 ± 1,3 ¹⁻³	22 ± 1,4 ¹⁻³
ТГ, ммоль/г	10,5 ± 0,27	13,7±0,61 ¹	13,6±0,57 ¹	12,3 ± 0,79	12,9 ± 0,86 ¹
ХС, ммоль/г	1,99±0,078	2,67±0,191 ¹	2,74±0,189 ¹	1,71±0,105 ²⁻⁴	2,42±0,165 ¹
Кислая ФЛА ₂ , мкмоль/мин. г белка	4,8 ± 0,23	6,4 ± 0,28 ¹	6,3 ± 0,35 ¹	5,4 ± 0,21 ^{2,3}	5,3 ± 0,29 ^{2,3}
Общий белок, мг/г	187 ± 6,8	156 ± 5,1 ¹	152 ± 7,8 ¹	200 ± 7,4 ²⁻⁴	176 ± 5,2 ^{2,3}

чие от свободной формы, обеспечил сохранение количества α-ХС сыворотки крови, снижение ИА и содержания ТГ печени.

Через 48 часов после введения тетрахлорметана у животных, не получавших никакого средства, в сыворотке крови на-

УДХК в равной степени повышали АОА и снижали активность кислой ФЛА₂ печени. Во второй группе животных, получавших иммобилизационный носитель (ДЭЦ), существенных изменений изучаемых показате-

Таким образом, в результате проведенного экспериментального исследования установлено, что оба препарата УДХК защищают печень от действия мембранотропного яда. Они значительно снижают в сыворотке крови активность трансаминаз, в печени – активность кислой фосфолипазы A_2 , препятствуют накоплению холестерина и снижению количества белков печени. Динамика содержания ДК и ТБК-активных продуктов в сыворотке крови и печени, повышение АОА ткани печени свидетельствуют о весьма эффективной защите липидов в мембранах гепатоцитов обеими формами УДХК.

1. При остром повреждении печени тетра-хлорметаном введение свободной и иммобилизованной форм урсодезоксихолевой кислоты оказывает гепатозащитное действие, значительно ослабляя процессы цитолиза и повышая активность антиоксидантной системы.
2. Новая форма урсодезоксихолевой кислоты, иммобилизованная на ионообменном сорбенте, сохраняет положительные свойства свободной урсодезоксихолевой кислоты.

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело.-1988.-№11.-С.41-43.
2. Гаврилов В.Б., Гаврилова А. Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // Лабораторное дело.- 1988. - №2. - С.60-64.
3. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лаб. дело. - 1988. - №5. - С.59-62.
4. Литвинко Н. М., Кисель М. А. Эндогенные фосфолипазы A₂: Структура и функция.- Мн.:Наука и техника,1991.-270 с.
5. Bragdon G.H. Simple method of determination cholesterol in tissue// Lipids and the Steroid

13. Stoffel W., Trabert U. Studies on the occurrence and properties of lysosomal phospholipases A₁ and A₂ and the degradation of phosphatidic acid in rat liver lysosomes // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. - 1969. - V. 350. - P. 836-844.

The administration of free and immobilized forms of ursodeoxycholic acid to rats with acute tetrachloromethane-induced liver injury produced a hepatoprotective action by the considerable reduction of cytolytic processes and the increase of activity of antioxidant system. The immobilized form of ursodeoxycholic acid possesses more powerful antioxidant effect and more favourable influence on the lipid metabolism.